

Animal Tissue Total RNA Extraction Kit

快速动物组织总RNA提取试剂盒（双离心柱型）

产品编号: MA2008 规格: 5T / 50T

产品内容

产品组成	MA2008-T 5T	MA2008-1 50T
Buffer FRL	4 mL	30 mL
Buffer FRW	5 mL	40 mL
Buffer FRW1	2.4 mL (Add 9.6 mL absolute ethanol before use)	12 mL (Add 48 mL absolute ethanol before use)
Proteinase K	50 μ L	500 μ L
RNase-Free ddH ₂ O	1 mL	15 mL
RNase-Free RNA Columns	5 Rxns	50 Rxns
RNase-Free gDNA Remove Columns	5 Rxns	50 Rxns
说明书	1份	1份

产品简介

快速动物组织总RNA提取试剂盒 (Animal Tissue Total RNA Extraction Kit) 是基于硅胶柱纯化技术的双离心柱式总RNA提取试剂盒。试剂盒采用膜过滤技术, 可更大程度的去除基因组DNA, 高效且专一的得到总RNA。本产品适用于从 ≤ 20 mg动物软组织 (肝脏、脾脏、肾脏、脑等) 中快速提取总RNA。整个提取流程可在30分钟内完成, 无需使用DTT及 β -巯基乙醇。提取的总RNA纯度高、完整性好, 最大程度减少了DNA、蛋白等杂质污染, 可直接用于RT-PCR、qRT-PCR、Northern Blot、芯片分析、Dot Blot、Poly A筛选、体外翻译、RNA酶保护分析及分子克隆等实验。

保存条件

Proteinase K置于-20°C保存, 其余组分常温保存。自生产之日起12个月有效。

注意事项

- 使用前请一定按照使用说明2的要求配制相关溶液。
- RNA在Buffer FRL中时不会被RNase降解, 但提取后继续处理过程中如果需要用到塑料和玻璃器皿则应使用RNase-Free的。玻璃器皿可在150°C烘烤4h, 塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min, 然后用RNase-Free水彻底清洗, 再灭菌。更建议使用一次性的RNase-free实验器具, 并且RNA实验专用, 不要用于其它实验, 避免交叉污染。
- 为了预防RNase污染, 请经常更换新手套, 以防止来自皮肤表面的RNase污染物。
- 提取RNA过程建议在专门做RNA的超净台中进行, 如有必要请提前喷洒核酸酶清除试剂。
- 为了您的安全和健康, 操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilun.com

本产品仅供科研使用



使用说明（以下操作均在室温下进行）

1 需自备材料

1.1试剂：无水乙醇、70%乙醇（用RNase-free水配制）

1.2耗材：RNase-Free的枪头和离心管

2 试剂准备：第一次使用前，应在Buffer FRW1中加入标签标识体积的无水乙醇。

3 样品处理：每10~20 mg动物组织加入350 μL Buffer FRL，用匀浆器将组织彻底匀浆，然后加入10 μL Proteinase K，混匀后室温放置5 min。

【注意】脾脏组织建议使用5 mg，肌肉类的组织可以增加至50~100 mg。

4 12,000 rpm (~13,400×g) 离心2~5 min。

5 把过滤柱RNase-Free gDNA Remove Column放在2 mL收集管中，将上述离心后的上清液转入过滤柱中，12,000rpm (~13,400×g) 离心30 s，保留收集管中滤液。

【注意】组织裂解液需高速离心去除杂质，细胞碎片会引起柱子的堵塞。处理某些样品时，离心后裂解液表面还可能有一层脂类层，转移上清液尽量不要吸到这些物质。若过滤柱堵塞，可将滤液吸出加入适量裂解液匀浆后再转移至新的过滤柱中。

6 丢弃过滤柱，在滤液中加入等倍体积的70%乙醇（用RNase-free水配制），用移液枪吸打3~5次。

7 把RNase-Free RNA Column放在2 mL收集管中，将溶液和沉淀混合物一起转移至吸附柱中。12,000 rpm (~13,400×g) 离心30 s，弃掉收集管中的废液，把吸附柱放回到收集管中。

8 如不进行DNase I消化，加入700 μL Buffer FRW至吸附柱中，12,000 rpm (~13,400×g) 离心30 s，弃掉收集管中的废液，把吸附柱放回到收集管中。

【注意】若后续实验对RNA纯度要求比较严格，可选择使用DNase I（自备）进行膜上DNase消化。

(1)向吸附柱中加入350 μL Buffer FRW，12,000 rpm (~13,400×g)离心30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

(2)向吸附柱中央加入DNase I工作液，室温放置15 min。

(3)向吸附柱中加入350 μL Buffer FRW，12,000 rpm (~13,400×g)离心30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

9 向吸附柱中加入500 μL Buffer FRW1（使用前确认已加入无水乙醇），室温静置2 min。12,000 rpm (~13,400×g) 离心30 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

10 重复步骤9。

11 12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min，弃掉废液，将吸附柱置于室温开盖放置数分钟，以彻底晾干吸附柱中残余的液体。

【注意】若晾干不彻底，可能会影响后续的RT等实验。

12 将吸附柱放入一个新的1.5 mL离心管中，根据实验需要，向吸附膜的中间部位小心悬空滴加30-100 μL RNase-Free ddH₂O，室温静置2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min，离心管中得到RNA溶液。得到的RNA溶液可置于-80℃保存或立即用于后续实验。

【注意】洗脱液体积过大会影响回收效率，最小的洗脱体积是30 μL。

常见问题与解答

问题	可能原因	建议
RNA得率低	样品裂解不充分	建议参考说明书充分研磨、振荡样品，使样品充分裂解
	样品用量过多	建议按照说明书要求适量取样
	洗脱不充分	RNase-Free ddH ₂ O需直接加到膜中央，并静置2min 后再离心，必要时可进行二次洗脱以提高产量
	吸附柱有乙醇残留	使用Buffer FRW1漂洗后需要开盖晾干吸附柱中的乙醇
RNA降解	样品处理或保存不当	尽量使用新鲜样品或者解冻次数不超过两次的样品
	样品过量，影响裂解液的裂解能力，造成RNase未被充分抑制，导致RNA降解	请参考使用说明推荐取样量，若要增加样品起始量，则后续实验中各溶液量均要按比例增加。对于内源RNase含量较多的组织应减少样品量，可适当增加裂解液用量
	电泳过程中发生降解	使用RNase-Free的Loading Buffer、琼脂糖和缓冲液等
	环境、试剂或耗材中含有RNase	使用RNase-free的试剂及耗材，建议在超净台中操作
DNA污染	样品裂解时加入的试剂量过少	请参考使用说明推荐试剂量
	去除基因组DNA的操作不够	若DNA含量较多，可延长DNase I消化时间或重复消化
	次生代谢物较多	次生代谢物含量高的样本在提取RNA时易出现基因组的污染
过滤柱堵塞	样品用量过多	裂解液粘稠，减少样品量或加大裂解液用量，样品量过多反而会降低产量和纯度
	裂解离心不充分	组织裂解液需高速离心去除杂质，杂质会引起柱子的堵塞，转移上清液尽量不要吸到杂质。如gDNA过滤柱发生堵塞，可增加离心次数、时间或转数；或者可将滤液吸出加入适量裂解液匀浆后再转移至新的gDNA过滤柱中
	离心温度过低	本产品使用操作均在室温下进行

S250701

